

sample size and follow-up. Thus, further investigations with larger series of paired diagnostic and follow-up BM samples from AML patients are required. **Conclusion:** MRD-FC has become an indispensable tool for prognosis, clinical management, and guiding decisions, being feasible to introduce as a tool for treatment response assessment and risk stratification after post-induction.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.332>

CITOMETRIA DE FLUXO: UM PARADIGMA EM REAL EVOLUÇÃO PARA DETECTAR A INFILTRAÇÃO DE BLASTOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

BW Andrade ^{a,b}, FLO Gomes ^{a,b}, ES Queiroz ^b, FS Silva ^{b,c}, IC Freitas ^{a,b}, CLDS Catão ^{a,b}, JGS Ghedini ^b, AM Tarragô ^{a,b}, AG Costa ^{a,b,c}, ND Araújo ^{a,b}

^a Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brasil

^b Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

^c Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

Introdução: A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é uma alteração maligna de células progenitoras de origem linfóide na medula óssea, com liberação no sangue periférico e tecidos extramedulares, como linfonodos e Sistema Nervoso Central (SNC). A Citometria de Fluxo (CF) é uma técnica que tem contribuído para o diagnóstico laboratorial de pacientes com LLA. **Objetivos:** Determinar como as técnicas avançadas da citometria de fluxo podem melhorar o diagnóstico, o monitoramento e o manejo clínico da LLA, proporcionando uma visão mais clara sobre a eficácia da citometria de fluxo na identificação precisa da infiltração de blastos no SNC de pacientes com LLA. **Material e métodos:** Esta análise é uma revisão integrativa que utilizou as recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) com artigos selecionados das plataformas PubMed e LILACS usando os descritores ‘Infiltração’, ‘Citometria de Fluxo’, ‘Líquido Cefalorraquidiano’ e ‘Leucemia Linfoblástica Aguda’. **Resultados:** Os estudos demonstraram que a LLA apresentava um risco maior para infiltração no líquido cefalorraquidiano (LCR) por células neoplásicas, tendo em vista que o envolvimento do SNC está associado ao aumento de recidiva e um pior prognóstico. Diante disso, o uso da CF no diagnóstico e tratamento permite resultados mais precisos em comparação com a citomorfologia que é uma técnica bastante utilizada no diagnóstico, que devido à baixa celularidade nas amostras de LCR, essa técnica muitas vezes não é capaz de identificar ou distinguir os blastos na morfologia. Em contrapartida, estudos mostraram que a CF tem maior sensibilidade e especificidade, em razão da capacidade de discriminar as diferenças entre leucócitos normais e blastos, a partir do uso de diferentes anticorpos monoclonais. Portanto,

dados indicam que a detecção de blastos no LCR por Citometria de Fluxo apresentaram maior positividade, precisão, exatidão e sensibilidade. **Discussão:** O exame de citomorfologia do LCR é considerado o método padrão ouro para o diagnóstico de infiltração do SNC. No entanto, devido à sua baixa sensibilidade, existe um risco aumentado de resultados falso-negativos, especialmente em casos de baixa celularidade. Portanto, é essencial integrar a Citometria de Fluxo na rotina como parte no diagnóstico e prognóstico, uma vez que este método ainda não é padronizado e difere entre algumas instituições. **Conclusão:** Os estudos analisados destacaram as limitações da citomorfologia tradicional, principalmente devido à sua baixa sensibilidade em amostras de LCR. Em contrapartida, a CF demonstrou maior sensibilidade e especificidade, sendo capaz de detectar células neoplásicas no LCR. Essa vantagem se deve ao uso de múltiplos anticorpos monoclonais, que permitem a análise de uma ampla gama de antígenos, proporcionando uma avaliação detalhada das características celulares. Sua implementação na prática clínica pode melhorar os desfechos dos pacientes, com intervenções terapêuticas mais eficazes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.333>

IMPACTO DO SILENCIAMENTO DAS PROTEÍNAS RHOA E RHOC NA AQUISIÇÃO DE DANOS AO DNA E MORTE DE CÉLULAS MIELOIDES U937 TRATADAS COM UV-C

SSC Sampaio ^a, CS Souza ^a, BA Rodrigues ^a, AD Ferreira ^a, ASS Duarte ^b, STO Saad ^b, M Lazarini ^a

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: RhoA e RhoC são proteínas RHO GTPases homólogas que desempenham papéis cruciais na regulação de processos celulares, incluindo a apoptose e a resposta ao dano no DNA. Compreender as funções específicas dessas proteínas em resposta ao estresse genotóxico é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, inclusive em leucemias mieloides, já que o mecanismo de resistência a danos no DNA está associado a eficácia dos tratamentos. **Objetivos:** Comparar o impacto do silenciamento de RhoA e RhoC na indução de dano no DNA e apoptose de células leucêmicas. **Material e métodos:** Células da linhagem U937 foram silenciadas para RhoA (shRHOA) e RhoC (shRHOC) utilizando vetores lentivirais. O silenciamento foi confirmado por PCR em tempo real e western blot. O estresse genotóxico foi induzido através da exposição celular a 10J/m² de UV-C e coletadas nos tempos de 2, 6 e 24 horas. A expressão de γH2AX (marcador de DNA) e apoptose (marcação de anexina V e iodeto de propídeo) foram avaliadas por citometria de fluxo. **Resultados:** Observamos uma redução efetiva na expressão gênica e proteica (aproximadamente 85%) de RHOA e RHOC nas células U937 shRHOA e shRHOC, respectivamente. As células silenciadas para RHOA apresentaram

aumento da expressão de γ H2AX (4,8% de células positivas) e nos níveis de apoptose em comparação as células controle. Conforme o esperado, a expressão de γ H2AX aumentou nas células controle a partir de 6 horas após a exposição à UV-C (aproximadamente 70% de células positivas). Nas células shRHOA e shRHOC houve menor aumento de expressão de γ H2AX 34.8% e 29.3% de células positivas, respectivamente. Além disso, a exposição a UVC induziu uma maior porcentagem de células shRHOA em apoptose tardia em comparação às células shCTRL. Nas células shRHOC, por sua vez, a exposição a UVC pareceu induzir o processo de necrose. **Discussão e conclusão:** O silenciamento de RHOA por si (e não RHOC) causou danos ao DNA mas não houve alterações na apoptose em células U937. Porém, um efeito protetor à indução de danos ao DNA foi observado quando células silenciadas para RHOA ou RHOC foram expostas a UVC, o que pode estar relacionado a diferenças encontradas na morte celular. O aumento da necrose induzida nas células shRHOC, contraditória ao seu aparente efeito protetor, talvez esteja relacionada ao processo de reconhecimento dos danos para os reparos, induzindo a necrose imediata. Estes resultados indicam que ambas as proteínas participam de maneiras únicas na resposta nos danos induzidos por UVC em células mielóides. **Financiamento:** FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.334>

PAPEL DIAGNÓSTICO DA CITOMETRIA DE FLUXO EM MASSAS MEDIASTINAIS: DESAFIOS NA DIFERENCIAÇÃO ENTRE HIPERPLASIA TÍMICA E LLA-T

TTT Catelan, DC Daniel, RG Souza, AVS Sousa, A Melo, ACT Silva, YH Maekawa, MCA Silva, MV Gonçalves, AF Sandes

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O diagnóstico diferencial de massas mediastinais anteriores pode ser desafiador, especialmente na distinção entre neoplasias tímicas e leucemia/linfoma linfoblástico de células T (LLA-T). Ambas as condições podem se apresentar como massas mediastinais e compartilham características citológicas e imunofenotípicas semelhantes, tornando a diferenciação difícil, particularmente em amostras escassas obtidas por biópsia por aspiração com agulha fina ou mediastinoscopia. A citometria de fluxo (CF) é uma técnica de rotina na avaliação de neoplasias hematológicas, incluindo a avaliação de tecidos sólidos, complementando outras modalidades diagnósticas como a histopatologia e a imunohistoquímica. O objetivo do presente estudo é avaliar o papel da citometria de fluxo na avaliação de massas mediastinais, com foco específico na sua aplicação para diferenciar timoma de LLA-T. **Material e métodos:** Foram avaliadas retrospectivamente doze amostras de biópsia de massa mediastinal, enviadas para avaliação por CF. O tecido foi dissociado mecanicamente para criar uma suspensão celular, que foi então filtrada para remoção de debris. As células foram marcadas com anticorpos monoclonais utilizando um painel de oito cores direcionado para neoplasias de células T. Dois

casos foram avaliados para expressão de TRBC1 (T-cell receptor β constant 1), um marcador recente de clonalidade T. Após a marcação, as células foram adquiridas nos citômetros de fluxo FACSCanto-II e FACSlyric e analisadas pelo software Infinicyt (Cytognos). **Resultados:** A idade mediana foi de 34 anos (14-70), sendo sete homens. Dez casos foram classificados como timoma/hiperplasia tímica, um caso como LLA-T e um caso como linfoma de Hodgkin clássico associado à hiperplasia tímica. Os casos de hiperplasia tímica apresentaram um padrão fenotípico característico, representado pela presença de três subpopulações distintas, com padrão de diferenciação celular: (a) linfócitos T duplo-negativos: expressam CD2 e CD5 em baixa intensidade, CD7, CD34, TdT e ausência de expressão de CD4, CD8, CD1a e CD3 de membrana; (b) linfócitos T duplo-positivos: população predominante. Expressam CD1a, CD2, CD5, CD7, CD4, CD8 e CD3 de superfície de forma heterogênea, com ausência de expressão de CD34 e TdT; (c) linfócitos T simples-positivos: subpopulações menores CD4+ e CD8+, formando um padrão característico de “cauda dupla de cometa”, ou seja, presença de células intermediárias entre as populações (b) e (c). Em contraste, as células da LLA-T formam um agrupamento imaturo compacto, sem diferenciação celular. Os linfócitos T maduros CD4+ e CD8+ estão presentes, isolados da população anômala, sem o aspecto de cauda de cometa. Nos dois casos avaliados, a expressão de TRBC1 permitiu a distinção entre timócitos normais da hiperplasia tímica (padrão policlonal) dos blastos da LLA-T (restrição clonal). **Conclusão:** A CF desempenha um papel valioso e complementar à histologia no diagnóstico de tumores mediastinais, permitindo a rápida diferenciação de timócitos benignos de linfoblastos T. É importante ressaltar que o padrão de hiperplasia tímica pode confundir com LLA T-cortical, destacando a necessidade do conhecimento do padrão de “cauda dupla de cometa” ou do uso de marcadores de clonalidade, como o TRBC1. Esta abordagem é particularmente útil quando se lida com amostras escassas e pode orientar decisões de tratamento, potencialmente evitando procedimentos invasivos desnecessários em pacientes com LLA-T.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.335>

TUBO CLEARLLAB LS COM DROPPING DE ANTICORPOS LÍQUIDOS CD14PB E CD33APC-A750 PARA AVALIAÇÃO PRIMÁRIA EM EXAMES DE IMUNOFENOTIPAGEM COM SUSPEITA E DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

AM Alexandre, AL Silva, KR Barreto, A Cobacho

DB Molecular, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A citometria de fluxo é um método que possibilita a análise individual de características físicas e moleculares das células. Este processo envolve a marcação das células-alvo com anticorpos específicos, conjugados a fluorocromos, que emitem fluorescência quando excitados por um feixe de luz laser no citômetro de fluxo. A dispersão da luz e a fluorescência captadas pelos detectores do citômetro fornecem